

X線小角散乱を用いた非イオン性界面活性剤ミセル および胆汁酸混合ミセルの構造解析

著者	相澤 秀樹
内容記述	この博士論文は内容の要約のみの公開（または一部非公開）になっています
発行年	2015
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2014
報告番号	12102甲第7358号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00133919

論文の要約

氏 名：相澤 秀樹

学籍番号：201230264

所 属：筑波大学大学院 生命環境科学研究科 生物機能科学専攻

論文題目：

X 線小角散乱を用いた非イオン性界面活性剤ミセルおよび胆汁酸混合ミセルの構造解析

要 約：

両親媒性分子の集合体であるミセルは、幅広い産業分野で利用されている。ミセルの構造はその機能に影響すると考えられ、ミセルを構成する分子の組成や、媒体の溶媒組成によるミセルの構造変化を明らかにすることは、ミセルの機能の基礎的な理解、さらにはミセル利用の進展につながる知見として重要である。しかし、液中に形成されるナノメートルスケールの微細なミセルの構造を明らかにする方法は限られており、特にミセルの構造に対する分子組成や溶媒組成の影響を系統的に明らかにした報告は少ない。本論文では、医薬品・食品分野における両親媒性分子機能の新たな利用法を開拓する上で重要な非イオン性界面活性剤と胆汁酸混合ミセルに着目した。X 線小角散乱の実験データに、理論散乱式を高い精度でフィッティングする計算アルゴリズムを開発することで、両親媒性分子ミセルの詳細な構造を解析し、非イオン性界面活性剤のミセルの構造に対する極性溶媒添加の影響、また、胆汁酸混合ミセルの構造に対する組成の影響を明らかにした。

第 1 章では、本論文の背景となる医薬品や食品産業分野における両親媒性ミセルの利用、ならびに、ミセルの構造評価法について既往の研究をまとめ、目的を述べた。

第 2 章では、非イオン性界面活性剤のミセルの構造に対する極性溶媒添加の影響を検討した。非イオン性界面活性剤は、タンパク質の立体構造の保持を担う分子シャペロンとしての利用が検討されている。その際、非イオン性界面活性剤分子とタンパク質の相互作用を制御するため極性溶媒が添加される。この極性溶媒の添加により非イオン性界面活性剤分子ミセルの構造も変化していると考えられる。この様な背景から非イオン性界面活性剤のミセルの構造に対する極性溶媒添加の影響を明らかにすることにした。非イオン界面活性剤であるポリソルベート 20、ポリソルベート 80、およびオクタエチレングリコールモノドデシルエーテル ($C_{12}E_8$) により形成されるミセルの構造に対する、各種極性有機溶媒添加の影響を X 線小角散乱により検討した。ポリソルベート 20 およびポリソルベート 80 は、水媒体中で二重巻円柱ミセルを形成し、1,4-ジオキサン濃度の増大に伴い、二重巻円盤ミセルに変形し、さらに

二重巻楕円柱ミセルへと変形することを明らかにした。一方、ジメチルスルホキシド(DMSO)濃度を増大した場合、ポリソルベート 20 ミセルは二重巻円柱ミセルから二重巻円盤ミセルへの変形にとどまった。また、ポリソルベート 80 ミセルは、DMSO 濃度を変えても二重巻円柱ミセルから形状が変形することはなかった。さらに、非イオン界面活性剤 $C_{12}E_8$ ミセルに対する 1,4-ジオキサン濃度の影響を検討し、水媒体中で円盤状二重巻ミセル が 1,4-ジオキサン濃度の増大に伴い、円盤状二重巻逆ミセルへと変化することを明らかにした。これら極性有機溶媒の濃度により非イオン性界面活性剤ミセルの構造変化する機構について、溶媒の極性変化と関連付けて議論した。

第 3 章では、胆汁酸混合ミセルの構造に対する組成の影響を検討した。胆汁酸混合ミセルは、生体における脂溶性食品成分の消化・吸収に関与しており、胆汁酸混合ミセルの構造解析は、脂溶性の食品機能成分や薬理成分の効率的な吸収を促す食品や医薬品開発の基礎として有用である。既往の研究で、胆汁酸ミセルに含まれるリゾリン脂質 1-パルミトイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン(MPPC)、あるいはリン脂質 2-オレイル-1-パルミトイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン(POPC)の濃度により、小腸上皮モデルである Caco-2 細胞への β -カロテンの吸収量が増えることが報告されている。本論文ではこの結果に着目し、胆汁酸混合ミセルの構造に対する、MPPC および POPC の影響を X 線小角散乱により検討した。胆汁酸混合ミセルは、 β -カロテンの吸収量を検討した既往の研究と同じモル比で、胆汁酸と 1-オレイル-*rac*-グリセロール、オレイン酸に、MPPC あるいは POPC を添加して調製した。脂質の総濃度については、X 線小角散乱で測定できる濃度に設定した。X 線小角散乱による構造解析の結果、胆汁酸混合ミセルは、MPPC 濃度の増大に伴い二重球ミセルから二重回転楕円体ミセルへと変化した。一方、POPC 濃度が増大すると、二重球ミセルから二重回転楕円体ミセルへ変化した、さらに二重円柱ミセルへと変化した。本研究で明らか求めた各組成における胆汁酸混合ミセルの構造と、報告されている Caco-2 細胞に吸収された β -カロテンの吸収量を比較検討した結果、混合ミセル表面の曲率が大きい場合に β -カロテンの取り込み量が比較的高く、表面の曲率が小さな混合ミセルでは取り込み量が低い傾向が見られ、 β -カロテンの取り込み量に胆汁酸混合ミセルの構造が影響することを示唆した。

さらに、ヒトの腸における胆汁酸混合ミセルの組成に関する既報の値を参考に、各成分を同様のモル比で混合し、脂質の総濃度を X 線小角散乱で測定できる濃度に調製した胆汁酸混合ミセルの構造解析も行った。その結果、この組成では MPPC あるいは POPC を添加した何れの混合ミセルにおいても、MPPC あるいは POPC 濃度の増大と共に、二重球ミセルから二重円柱ミセルへ変化した。以上、胆汁酸混合ミセルの構造に関する一連の解析結果から、胆汁酸混合ミセルは組成により形状と大きさ、さらには内部構造が変化することが明らかにし

た。

第4章では、論文を総括し、得られた成果とその意義を明確にするとともに、今後の課題と展望を述べた。

本論文は、X線小角散乱の実験データに、理論散乱式を高い精度でフィッティングする計算アルゴリズムを開発し、非イオン界面活性剤ミセルの構造に対する極性有機溶媒添加の影響、ならびに、胆汁酸混合ミセルの構造に対する脂質組成の影響を系統的に明らかにした。本論文の成果は、両親媒性ミセルの構造と機能の相関解明を進める際の基礎的知見として、また、医薬品や食品産業分野における両親媒性ミセルへの新たな利用につながる知見として有用である。